

hPSC 诱导分化肾类器官试剂盒

Cat NO: IMV-K001

产品描述

本产品为 hPSC 诱导分化肾类器官试剂盒，人多能干细胞 hPSC 通过该试剂盒诱导分化可得到肾类器官，该类器官具类似肾的细胞组成，有肾小球、肾小管上皮细胞等。

本试剂盒需要操作人员具有 hPSC 培养经验，对类器官具有一定了解。

实验仪器、材料

仪器：生物安全柜、细胞培养箱、水平式离心机、倒置显微镜、低温冰箱

材料：6 孔细胞培养板、超低吸附 6 孔板、离心管（规格为 15 mL 和 50 mL）、移液器（规格为 10 μ L、100 μ L、1000 μ L）、无菌吸头（规格为 10 μ L、200 μ L 和 1000 μ L）、移液管（规格为 10mL、50mL）

试剂盒内容

研究阶段	产品货号	产品名称	产品规格	储存
EB 形成阶段	IMV-K01	EB 形成培养基	30mL	-20 $^{\circ}$ C，12 个月
	IMV-K01-S	EB 形成补充剂	60uL	20 $^{\circ}$ C，6 个月
后原始条纹诱导阶段	IMV-K02	基础培养基 1	20mL	-20 $^{\circ}$ C，12 个月
	IMV-K02-A	补充剂 A	160uL	-20 $^{\circ}$ C，6 个月
中间中胚层诱导阶段	IMV-K03	基础培养基 2	20mL	-20 $^{\circ}$ C，12 个月
	IMV-K03-B	补充剂 B	400uL	-20 $^{\circ}$ C，6 个月
肾发生阶段	IMV-K04	基础培养基 3	40mL	-20 $^{\circ}$ C，12 个月
	IMV-K04-C	补充剂 C	50uL	-20 $^{\circ}$ C，6 个月
	IMV-K04-D	补充剂 D	600uL	-20 $^{\circ}$ C，6 个月
肾类器官成熟阶段	IMV-K05	成熟培养基	60mL	-20 $^{\circ}$ C，12 个月



试剂盒使用流程

①EB 形成（2 天）

- 1.hPSC 于基质胶包被的六孔板的一个孔生长至 70-80%汇合度。
- 2.吸去培养基。
- 3.孔中加入 1mL PBS（无钙镁离子）洗，吸去。
- 4.孔中加入 1mL accutase，37℃消化 5min。
- 5.取 11mL EB 形成培养基与 22μL EB 形成补充剂混匀获得 EB 形成完全培养基，于超低吸附 6 孔板的 3 个孔每孔加入 2mL EB 形成完全培养基。
- 6.当看到克隆发白发亮，轻轻拍打板侧（每侧拍两下），把细胞拍下来，再在生物安全柜中，加入 1mL EB 形成完全培养基终止消化，把这 2mL 体系吸入装有 3mL EB 形成完全培养基的 15mL 离心管离心 160g 5min，吸弃上清至剩余几十微升，轻弹孔底 3-4 下，让细胞沉淀溶于上清，往孔板里加 1mL EB 形成完全培养基，轻弹 3-4 下，混匀即可，把这一毫升细胞悬液平均悬空加入提前准备的 6 孔板 3 个孔中，37℃、5%CO₂ 过夜。
- 7.第二天（D-1）镜下观察可以看到形成大量、均一的 EB，半数换液，补充 50%EB 形成培养基（不含补充剂），置于水平摇床培养。（注意：所用培养基均应提前在工作台放置 30min 以恢复室温，后面操作同理。）

②后原始条纹诱导（4 天）

- 8.D0，解冻补充剂 A，将基础培养基 1 与补充剂 A 混匀，作为后原始条纹诱导培养基。
- 9.吸出孔中 EB 形成培养基，注意不要将 EB 吸出。
- 10.每孔加入 2mL 后原始条纹诱导培养基，放入 37℃，5%CO₂ 的培养箱继续培养。
- 11.D2 每孔更换 2mL 后原始条纹诱导培养基，操作如 9、10。

③中间中胚层诱导（3 天）

- 12.D4，解冻补充剂 B，将基础培养基 2 与补充剂 B 混匀，作为中间中胚层诱导培养基。每孔更换 2mL 中间中胚层诱导培养基，操作如 9、10。



13.D6 每孔更换 2mL 中间中胚层诱导培养基，操作如 9、10。

④肾发生（5 天）

14.D7，解冻补充剂 C、D，将 10mL 基础培养基 3 与补充剂 C 混匀，作为肾发生培养基 1。每孔更换 2mL 肾发生培养基 1，操作如 9、10，放入 37℃，5%CO₂ 的培养箱培养 1 小时。

15.1 小时后，将 30mL 基础培养基 3 与补充剂 D 混匀，作为肾发生培养基 2。每孔更换 2mL 肾发生培养基 2，操作如 9、10。

16.D9、D11，每孔更换 2mL 肾发生培养基 2，操作如 9、10。

⑤肾类器官成熟（11 天）

17.D12 开始，每 2 天更换成熟培养基，每孔 2mL，操作如 9、10，至 D23。

